

BLOOD PURIFYING ADSORBING BODY

Patent number: JP60090039
Publication date: 1985-05-21
Inventor: KANEKO MORIMASA; others: 01
Applicant: ASAHI KASEI KOGYO KK
Classification:
- international: B01J20/26; A61M1/36
- european:
Application number: JP19830196145 19831021
Priority number(s):

Report a data error here

Abstract of JP60090039

PURPOSE:To obtain an adsorbing body not coagulating blood even if adsorbs the malignant substance in body fluids and contacted therewith, by providing an polyanion graft chain and an org. compound having a functional region bondable with a substance to be adsorbed to the surface of an insoluble carrier.

CONSTITUTION:A polyanion graft chain and an org. compound having a functional region bondable with a substance to be adsorbed to the surface of an insoluble carrier. By using this blood purifying adsorbing body, even if the malignant substance or cell in body fluids is selectively adsorbed therewith and brought into contact therewith, blood is not coagulated. The negative charge density of the aforementioned polyanion graft chain is pref. $0.5\text{--}500\text{m}\mu\text{eq}/\text{m}^2$ per a surface area of the insoluble carrier and, as the negatively charged functional group, a sulfonic acid group or a carboxylic acid group is pref. used. In addition, as the functional region bondable with the substance to be adsorbed, for example, there is a homopolymer of mono-, di- and trinucleotide such as adenine used in the adsorptive removal of an antinuclear antibody.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Patent Abstracts of Japan

⑫ 公開特許公報(A)

昭60-90039

⑬ Int.Cl.⁴

B 01 J 20/26
A 61 M 1/36

識別記号

庁内整理番号

7624-4G
6675-4C

⑭ 公開 昭和60年(1985)5月21日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全8頁)

⑮ 発明の名称 血液浄化吸着体

⑯ 特 願 昭58-196145

⑰ 出 願 昭58(1983)10月21日

⑱ 発 明 者 金 子 守 正 富士市蛟島2番地の1 旭化成工業株式会社内
⑲ 発 明 者 山 脇 直 邦 富士市蛟島2番地の1 旭化成工業株式会社内
⑳ 出 願 人 旭化成工業株式会社 大阪市北区堂島浜1丁目2番6号
㉑ 代 理 人 弁理士 清水 猛

明 細 書

1 発明の名称

血液浄化吸着体

2 特許請求の範囲

不溶性担体表面に、ポリアニオングラフト鎖と、被吸着物質と結合可能な官能部位を有する有機化合物とを有することを特徴とする血液浄化吸着体。

3 発明の詳細な説明

本発明は、血液や血漿中から悪性物質や悪性細胞を除去する血液浄化吸着体に関し、特に直接濾法を適用する全血用血液浄化に適した吸着体に関する。さらに詳しくは、癌、免疫増殖性症候群、慢性関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、アレルギー、臓器移植時の拒絶反応等の生体免疫機能に関係した疾患および現象、あるいは腎炎等の腎臓病、肝炎等の肝臓病などにおいて、血液、血漿等の体液中に発現し、疾患の原因あるいは進行と密接な関係をもつていると考えられる悪性物質や悪性細胞を、体液中より吸着、除去する吸着体に関する。

従来、体液浄化治療用吸着体には、主に肝臓病用に人工肝臓として活性炭あるいは活性炭を親水性高分子でコートしたものが用いられてきた。しかし、幾多の疾患において、疾患の原因あるいは進行と密接な関係にある種々の悪性物質や悪性細胞が知られるようになり、さらには該悪性物質や悪性細胞を体液中より選択的に除去する要請が高まってきたが、活性炭をベースとする吸着体は、その吸着対象物質が限られ、本要請に答えられないのが現状である。

また吸着体による体液浄化治療においては、生体に対して異物である活性炭等の吸着体と血液等の体液が接触することにより誘起される血液凝固が大きな問題であつた。この血液凝固を防止するためには、活性炭を親水性高分子でコートするなどの試みがなされているが、十分な抗血栓性は得られず、抗凝固剤であるヘパリンを血液中に供給して血液凝固を防止しているのが現状である。この場合、多量のヘパリンを使用することから、場合によっては出血などの副作用が発生するなどの問

題を準んでいる。

本発明者らは、悪性物質の選択的吸着、除去の要請に答えるため鋭意研究の結果、担体に被吸着物質と化学的な選択的相互作用をなす特別な物質を化学結合により保持させてなる種々の吸着体を見出し、先に特許出願した(特願昭56-7152、特願昭56-76776、特願昭56-159444、特願昭56-18923)。本発明は、先の発明に関して、上記の血液凝固の問題点につき鋭意研究を行つた結果、到達したものである。

すなわち、本発明者らは、上記の如き従来技術に基づく吸着体と血液との接触による血液凝固の問題点に鑑み、体液中の悪性物質や悪性細胞を選択的に吸着し、かつ接触しても血液を凝固させることのない吸着体について鋭意研究を進めた結果、不溶性担体表面に、ポリアニオングラフト鎖と、被吸着物質と結合可能な官能部位を有する有機化合物(以下、有機リガンドと称す)とを結合させてなる吸着体が、上記の問題点を解決することを

必要である。被吸着物質が免疫複合体特にIgM免疫複合体の場合には1000万に達するので、2~1000万が好ましい。本発明の目的に最も汎用的な排除限界分子量は10~500万である。本発明における不溶性担体の比表面積は5 m^2/g 以上が好ましく、55 m^2/g 以上がより望ましい。比表面積の測定法はいろいろあるが、本発明では、最も一般的な窒素ガスによるBET法で求めた。また比表面積測定に用いるサンプルは十分乾燥しておかなければならないが、乾燥しにくい担体にあつては、水にぬれた担体をアセトンと平衡にした後、60 $^{\circ}\text{C}$ 以下で減圧乾燥して測定用サンプルとした。

本発明でいう不溶性担体は、粒子状、繊維状、中空糸状、膜状、シート状等いずれの公知の形状も用いることができるが、有機リガンドの保持量、吸着体としての取扱い性よりみて、粒子状、繊維状のものが好ましく、特に粒子状のものが好ましい結果を与える。

球状または粒子状担体の粒径は、その比表面積

見出し、本発明を完成するに至つた。

従来容易に解決しえなかつた血小板粘着抑制と、アフィニティー型吸着能の二つの機能の両立を考えるに、血液中の悪性物質や悪性細胞に対し、アフィニティーのある有機リガンドを担体に結合させる一方、血小板粘着抑制手段を同一担体上に設けることが必要であり、本発明者らは、その優れた血小板抑制手段として、ポリアニオングラフト鎖の結合を見出した。これは、その負電荷による血小板の静電反発と、親水性グラフト鎖であることによる担体上のヒゲ効果(排除体積効果)で、さらに血小板を近づき離くすることが予想され、実験にもその効果を確めるに至つた。

本発明でいう不溶性担体としては、悪性物質が可溶性体液成分である場合には多孔性担体、特に多孔性重合体を用いることが好ましい。本発明で用いられる多孔性重合体の排除限界分子量(タンパク質)としては、被吸着物質である悪性物質の大きさに対応し、少なくとも2万以上であることが本発明目的の血液浄化を効果的に達成する上で

(吸着体としての吸着能力)と体液の流通面より、50~1500 μm のものが好ましい。さらに好ましい範囲は200~1000 μm である。

また、繊維状担体を用いる場合には、その繊維径が0.02デニールないし10デニール、より好ましくは0.1デニールないし5デニールの範囲にあるものがよい。繊維径が大きすぎる場合には、グロブリン系化合物の吸着量および吸着速度が低下するし、小さすぎる場合には、凝固系の活性化、血球粘着、目づまりをおこしやすい。

以上のような不溶性担体は、リガンドを固定化するため、担体が活性化でき、担体の活性化反応、固定化反応、吸着操作などを含めた全工程を通じて、物理的に安定であればよく、親水性化合物、疎水性化合物のいずれからでも選択可能である。具体的には、無機ベースのものにあつては、活性炭、ガラス等およびその誘導体があり、天然高分子由来担体には、セルロース、セフアロース、デキストラン、デンプン、アルギン酸、キチン等の単純多糖類およびその誘導体、寒天、ペクチン、

コンニャク、アラビアゴム等の多糖類およびその誘導体、羊毛、絹蛋白等の蛋白質等およびその誘導体があるが、これらは必要に応じ、架橋反応等の不溶化処理をした後、担体に用いる。

また、合成高分子にあつては、ビニル系高分子には、スチレン、酢酸ビニル、メタクリル酸エステル、アクリル酸エステル、ハロゲン化ビニル、ハロゲン化ビニリデン、アクリロニトリル、アクリルアミド、メチルビニルケトン、ビニルピロリドン、2-ビニルピリジン、エチレン、プロピレン、ブタジエン、イソプレン等およびその誘導体の重合体および共重合体があり、環状化合物の開環重合体には、ジメチルシクロプロパン、スピロ-0-0-キシリレン、ノルボルネン、シクロブテン、トリオキサン、ラクチド、シクロポリシロキサン、塩化ホスホニトリル、N-カルボキシ- β -アミノ酸無水物等およびその誘導体の重合体および共重合体、ポリホルムアルデヒド、ポリエチレンオキシド、ポリプロピレングリコール、ポリ-3,3-ビス(クロルメチル)オキサシクロブ

タン、ポリテトラヒドロフラン、ポリカプロラクタム等およびその誘導体がある。

また、重結合体には、ポリエステル、ポリアミド、ポリアンヒドリド、ポリカーボネート、ポリ尿素、ポリスルホンアミド、ポリイミド、ポリベンゾイミダゾール等およびその誘導体があげられる。

樹脂その他のものにあつては、アクリル樹脂、メタクリル樹脂、フッ素樹脂、エポキシ樹脂、尿素樹脂、アミノ樹脂、スチレン樹脂、メラミン樹脂、ポリウレタン、シリコン樹脂、アルキド樹脂等およびその誘導体が例示できる。

以上にあげた高分子担体は、必要に応じた適当なモノマー、架橋剤を用い、不溶化担体を得ることができ、架橋剤にあつては、硫黄、有機過酸化物、フェノール樹脂、ジイソシアナート、エポキシ化合物、ジエン、グルタルアルデヒド等、被架橋物の官能基に合わせ、種々のものを選択できる(大成社, "架橋剤ハンドブック", P 3~77, 1981)。

これらの不溶性担体の中でも、担体に固定化したリガンドのアフィニティーを利用する吸着体を作成するのであるから、担体自身が生体物質を非特異的に吸着するものであつてはならない点より、一般に親水性担体であることが好ましい。

また、リガンドの固定化容量を大きくする方向が吸着能を大きくする上で有利なことから、高活性化率担体を得易い有機高分子担体であることが好ましい。さらに、機械的または/および生体力学的性質をより適当に制御できる有機合成高分子担体であることが好ましい。すなわち、親水性の有機合成高分子がより好ましい担体を与える。そのような担体の中でも、ビニルアルコール単位を含む重合体または共重合体は、取扱性、応用性が広いことから、より好ましい担体である。

また、ビニルアルコール単位を含む重合体または共重合体にあつては、カルボン酸ビニルエステルとトリアリルシアヌレート、トリアリルイソシアヌレート等のトリアジン環を有する化合物、エチレングリコールジメタクリレート、ジエチレン

グリコールジメタクリレート等のジ(メタ)アクリレート類、ブタンジオールジビニルエーテル、ジエチレングリコールジビニルエーテル、テトラビニルグリオキサール等のポリビニルエーテル類、ジアリリデンペンタエリスリット、テトラアリロキシエタンのようなポリアリルエーテル類から選ばれた架橋性単量体を共重合して該共重合体をエステル交換またはケン化することによつて得られる不溶性担体が、強度、微細孔構造、化学的安定性の面から好ましい。

本発明の担体に保持させるポリアニオングラフト鎖とは、担体に結合した状態で、血液、体液等の中性電解液中で負電荷を示すものである。本発明において、ポリアニオングラフト鎖の負電荷密度は、不溶性担体の表面積当たり少なくとも $0.02 \mu\text{eq}/\text{m}^2$ であることが、血小板との相互作用を削減する効果を期待できる。さらに、より優れた抗血栓を示し、かつ内因系凝固活性化を低レベルに抑制できる負電荷密度の好ましい範囲は $0.2 \mu\text{eq}/\text{m}^2$ から $2500 \mu\text{eq}/\text{m}^2$ であり、さらに好まし

い範囲は $0.5 \mu\text{eq}/\text{cm}^2$ から $\mu\text{eq}/\text{cm}^2$ である。

本発明は、負電荷が担体表面に局在化している多相構造体にあつては、表面層における負電荷密度が上記範囲にあればよい。

本発明の担体に保持させるポリアニオングラフト鎖の分子量は、グラフト鎖による排除体積効果より、数平均で600ダルトン以上が好ましい。また、より安定した血小板の粘着抑制効果が期待でき、吸着能を妨げることのない分子量範囲は、1,500 ~ 1,000,000ダルトンの範囲である。

以上のポリアニオングラフト鎖を例示すると、負電荷官能基としては、スルホン酸基、カルボン酸基、リン酸エステル基等が好ましく用いられ、具体的に例示すると、ポリガラクトロン酸、リン酸化マンナン、コンドロイチン、コンドロイチン硫酸A、コンドロイチンC、ヒアルロン酸、アルギン酸、ペクチン酸、フカン酸等の酸性多糖類、天然高分子を基にしたものでは、カルボキシメチルセルロース、硫酸セルロース、カルボキシメチルでんぷん、リン酸セルロース等およびその誘導

体が挙げられ、重より得られるものとしては、ポリアクリル酸、ポリメタクリル酸、ポリビニル硫酸、ポリスチレンスルホン酸、マレイン酸共重合体、ポリリン酸、ポリビニルリン酸、ポリスチレンリン酸、ポリグルタミン酸、ポリアスパラギン酸、ポリホスフェイトエステル等およびその誘導体があるが、本発明は、ポリアニオン高分子であればよく、以上の物質に限定されるものではない。

本発明の担体に保持させる有機リガンドは、目的に応じて自由に選べるが、その中の一部を例示する。

全身性エリテマトーデス治療用としては、抗核抗体、抗DNA抗体の吸着除去用に、アデニン、グアニン、シトシン、ウラシル、チミン等のモノ、ジ、トリヌクレオチドのホモポリマー、またはコポリマー、天然に存在するDNA、RNA等の核酸、さらには核酸塩基、糖、オリゴ糖などを用いることができる。また血中に存在するDNA、RNA、ENAの吸着除去用に、抗一本鎖DNA

抗体、抗二本鎖DNA抗体、抗RNA抗体、抗ENA抗体等の抗核酸抗体、メチル化アルブミン、アクチノマイシンD等の塩基性化合物を用いることができる。さらに血中の免疫複合体の吸着除去用には、C1q等の補体成分、プロテインA等の特異タンパク質、抗ヘビーチェーン不変部第2相抗体、リウマチ因子等の免疫複合体に対する抗体を用いることができる。

慢性関節リウマチ、急性関節リウマチ治療用としては、尿素、塩酸 Guanidine、メルカプトエタノール、界面活性剤、有機溶剤等の化学的変性（凝集）方法、熱、超音波、ガスバブリング等の物理的変性（凝集）方法により変性された変性γグロブリン、変性イムノグロブリン、凝集γグロブリン、凝集イムノグロブリン、イムノグロブリンのFc部、イムノグロブリンのヘビーチェーン不変部第2相およびそれらの前記変性方法による変性体等のリウマチ因子に対する抗原様物質、抗リウマチ因子抗体およびトリプトファン、フェニルアラニン等親水性有機化合物を用いることが

できる。またリウマチの免疫複合体除去用には、C1q等の補体成分、プロテインA等の特異タンパク質、抗ヘビーチェーン不変部第2相抗体、リウマチ因子等の免疫複合体に対する抗体を用いることができる。

橋本病治療用には、サイログロブリン、甲状腺のミクロソーム分画成分を用いることができる。重症筋無力症治療用には、神経筋のアセチルコリンレセプター分画成分を用いることができる。

糸球体腎炎治療用には、糸球体基底膜成分、特発性血小板減少性紫斑病治療用には、血小板膜成分、血小板顆粒分画成分、クッシング症候群治療用にはトランスコーチゾン、抗コーチゾン抗体を用いることができる。

肝炎の予防、治療用には、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス等のウイルス表面抗原に対する抗体を用いることができる。

高血圧治療用には、抗アンジオテンシンII抗体、高脂血症治療用にはヘパリン、抗リボプロテイン抗体を用いることができる。

リンパ球異常に基づく免疫治療用には、抗Bセル抗体、抗サブレンサーT抗体、抗ヘルパーT抗体等の抗リンパ球抗体や、抗単球抗体、抗ナチュラルキラー細胞抗体、抗顆粒球抗体を用いることができる。

赤血球や血小板の膜疾患には、抗赤血球抗体や抗血小板抗体を用いることができる。

乳癌等の癌治療用には、プロテインA、抗イムノグロブリン抗体や免疫抑制因子に対する抗体を用いることができる。

本発明に用いることができるリガンドは、以上の例示に限定されるものではなく、コングニチニン、コンカナバリンA、フィトヘマアグルチニン等のレクチン、核酸、アミノ酸、脂質、糖脂質、プロタミン、ヘパリン、抗原、抗体、酵素、基質、細胞素、糖タンパク質等の被吸着物質と結合可能な公知の物質を用いることができる。

また、本発明の担体に2種以上のリガンドを保持させて用いることもできる。さらにはリガンドを保持した担体を2種以上併用して用いることも

できる。

本発明において、ポリアニオングラフト鎖と有機リガンドとを不溶性担体の表面に固定する方法は、共有結合、イオン結合、物理吸着、包埋あるいは担体表面への沈殿不溶化等あらゆる公知の方法を用いることができるが、これらの化合物の溶出性から考えると、共有結合により、固定、不溶化して用いることが好ましい。有機リガンドにおいては、通常固定化酵素、アフィニティクロマトグラフィーで用いられる公知の不溶性担体の活性化方法およびリガンドとの結合方法を用いることができる。また、必要に応じて不溶性担体とリガンドの間に任意の長さの分子(スパーサー)を導入して使用することもできる。

共有結合を形成しうる官能基としては、例えば、水酸基、アミノ基、カルボキシル基、エポキシ基、クロロホルミル基、アジド基、ホルミル基、プロモアセチル基、イソシアナート基、シアノ基、酸クロリド基、酸無水物基、ジアゾコウム基などが挙げられるが、これらの官能基の反応性が低く、

直接リガンドと共有結合を形成させることが困難な場合は、公知の活性化法で反応性の高い官能基に変換した後、リガンドと共有結合を形成させてもよい。例えば、担体の水酸基はハロゲン化シアン法、エピクロロヒドリン法、ビスエポキシド法、ハロゲン化トリアジン法、プロモアセチルブロミド法、エチルクロロホルマート法、カルボニルジイミダゾール法等により活性化できる。これらの官能基は有機リガンドのアミノ基、水酸基、カルボキシル基、チオール基等の求核反応基と反応し共有結合を形成できる。

一方、ポリアニオングラフト鎖を不溶性担体へ結合させる方式は、上記の有機リガンドと同様の方式の他に、酸素、オゾン、セリウム塩等を使用した酸化グラフト重合、アゾビスイソブチロニトリルやベンゾイルパーオキシド等の有機過酸化物を用いるグラフト重合、放射線グラフト重合等の担体へのアニオン性モノマーのグラフト重合が例示できる他、ポリアニオン鎖を担体の官能部位、活性化部位ヘカップリングする方法等が挙げられ

る。

以上の要素よりなる本発明における吸着体の製造法は、その構成要素の結合順序を規定したものではない。具体的には、ポリアニオングラフト鎖を持たない担体もしくは吸着体に、ポリアニオングラフト鎖を導入することで得られた担体もしくは吸着体も、本発明の一態様を示すものである。さらにポリアニオングラフト鎖と有機リガンドの結合順序も、製造上の難易に応じ選択できるものである。また、有機リガンドの導入法においても、有機リガンドをモノマーに結合して重合を行う方法や、高分子物質の後架橋による不溶性担体化の際、同時反応を行い、目的を達成することができる。

すなわち、本発明は、吸着体中にポリアニオングラフト鎖と有機リガンドが存在すればよく、その製造方法に左右されるものではない。

本発明の吸着体は、体液の導出入口を備えた容器内に充填保持して使用することができる。

図面は本発明の吸着体を使用した吸着装置の一

例を示すものであり、円筒2の開口部に、内側にフィルター3を張つたパッキング4を介して体液導入口5を有するキャップ6をネジ嵌合し、円筒2の他端開口部に内側にフィルター3'を張つたパッキング4'を介して体液導出口7を有するキャップ8をネジ嵌合して容器を形成し、フィルター3および3'の間に吸着体を充填保持させて吸着体層9を形成してなるものである。

吸着体層9には、本発明の該吸着体を単独で充填してもよく、他の吸着体と混合もしくは積層してもよい。他の吸着体としては、例えば、幅広い吸着能を有する活性炭等を用いることができる。これにより吸着体の相乗効果によるより広範な臨床効果が期待できる。吸着体層9の容積は、体外循環に用いる場合、50〜400ml程度が適当である。

本発明の装置を体外循環で用いる場合には、大略次の二通りの方法がある。一つには、体内から取り出した血液を直接該装置に通過させ、浄化する方法であり、他の一つは体内から取り出した血

液を遠心分離機もしくは膜型血漿分離器を使用して血液中の特定の成分を分離した後、その成分に含まれる悪性物質や悪性細胞を除去する方法である。このとき、体液の通液方法としては、臨床上の必要に応じ、あるいは設備の装置状況に応じて、連続的に通液してもよいし、また断続的に通液使用してもよい。

本発明の吸着体は、以上に述べてきたように、自己血液、自己血漿等の体液を浄化、再生する一般的な用法に適用可能であり、癌、免疫増殖性症候群、慢性関節リウマチ、全身性エリテマトーデス等の膠原病、重症筋無力症等の自己免疫疾患、気管支喘息のようなアレルギー性疾患、臓器移植時の拒絶反応等の生体免疫機能に関係した疾患および現象、乾癬、白癬等の皮膚疾患、あるいは腎炎等の腎臓病、肝炎等の肝臓病や血液病などの体外循環治療に、吸着体の基本的特性である吸着能力を犠牲にすることなく、高い能力を維持したまま優れた抗血栓を示すので、直接体外循環による全血の血液浄化が実施できる血液浄化吸着体であ

る。

以下実施例により、本発明の実施の態様をより詳細に説明する。

実施例1

酢酸ビニル100g、トリアリルイソシアヌレート41g、酢酸エチル100g、ポリ酢酸ビニル（重合度500）7gおよび2,2'-アゾビスイソブチロニトリル3.6gよりなる均一混合液と、ポリビニルアルコール1重量%、リン酸二水素ナトリウム二水和物0.05重量%およびリン酸水素二ナトリウム十二水和物1.5重量%を溶解した水0.4Lとをフラスコに入れ、65℃で18時間、さらに75℃で5時間加熱撹拌して懸濁重合を行い、粒状共重合体を得た。この重合体をカセイソーダで加水分解し、ポリビニルアルコール架橋重合体を得られた。この重合体の平均粒径は350μm、表面積120m²/g、蛋白排除限界分子量75万であつた。この重合体を用い、以下の方法で有機リガンドを導入した。すなわち、乾燥した担体15gをジメチルスルホキシド180mlおよ

びエピクロロヒドリン120mlからなる溶液中に懸濁し、30%水酸化ナトリウム水溶液15mlを加え、30℃に75時間撹拌させて、エポキシ活性化担体を得た。

該ゲルのエポキシ基結合量は、1mlのゲルにつき35μmolであつた。該エポキシ結合ゲルを用い、L-フェニルアラニンを結合させて吸着体を作成した。フェニルアラニンを0.025mmol/mlになるようにpH9.8の炭酸バッファに溶かした溶液を調製し、該エポキシ結合ゲル20mlに40mlの割合で加え、50℃で20時間反応させた。過剰の活性基は0.1mol/Lのグリシンでブロックした。フェニルアラニンの固定量は、反応液中に残存するフェニルアラニンの257.5nmの吸収から算出した。該吸着体のフェニルアラニン結合量は31μmol/mlであつた。吸着体は十分に水洗した後、生理食塩水で洗浄、脱水し、評価試験対象例に供した。

さらに、この吸着体を10mlとり、凍結乾燥後、常法により、硝酸銀2セリウムアンモニウム塩に

よる吸着体水酸基へのステレン・スルホン酸のグラフト重合を行つた。反応は、ステレンスルホン酸 0.14 mol/l 、硝酸セリウム塩 10 mmol/l を水 250 ml に溶解し、 35°C 3時間の撹拌を吸着体と混合して行つた。

得られたポリアニオンの負電荷密度を陽イオン交換容量測定にて行つた結果、 6.0 meq/ml であつた。この吸着体のポリアニオングラフト鎖は、常法によりナトリウム塩の形に調整し、評価に供した。

この吸着体を 3 ml カラム ($L/D=5$) に充填して、牛新鮮全血 (ヘパリン添加 500 U/100 ml 血液) を 1.0 ml/min でシングルパス法にて各1時間通液した。その結果、充填体積の低下、目づまり、流量低下はみられず、カラム前の圧力計の変化も $10 \sim 20 \text{ mmHg}$ であつた。

吸着実験は、慢性リウマチ患者血漿 3 ml と吸着体 1 ml を混合し、 37°C 、2時間インキュベーションにより行つた。リウマチ因子の分析は、吸着反応上清を、RAHAテスト (HA 3号) [富士レビ

D-ガラクトピランシル-D-グルコース) に β -(p-アミノフェニル)-エチルアミンを反応させた β -(p-アミノフェニル)-エチル化 D-(+)-ラクトースを用い、ポリアニオングラフト鎖としては、常法により、アクリル酸モノマーと2-アミノエタントールのラジカルテロメリゼーションにより得た平均分子量 $50,000$ のものを用いた (日本化学会誌, 1977, (1), P88~92)。重合体 20 ml に対し、前者有機リガンド 200 mg と後者の片末端アミン・ポリアクリル酸 1.0 g を競争反応させ、各々 2.7 mg/ml ・レジン、 3.0 mg/ml ・レジン固定した吸着体を得た。

このときのポリアニオングラフト鎖の負電荷密度は 1.5 meq/ml 、平均分子量は $15,000$ ダルトンであつた。実施例1と同様に、牛新鮮全血によるカラム通液試験を実施したところ、血栓の発生もなく、カラム前の圧力計は 5 mmHg 以下で、安定した流れを示した。

吸着実験は全身性エリテマトーデス患者血漿 5 容と吸着体 1 容を混合し、3時間インキュベート

オ (株) 製] および (KW) キット [協和薬品工業 (株) 製] を用い、患者血漿の段階希釈液との混和によつて生じる凝集反応の有無により、陽性か陰性かを判断し、陽性を示す最高希釈倍数をもつて、抗体価を求めた。患者血漿の抗体価は、RA160、RAHA1280 に対し、本実施例による吸着体の抗体価は $20,80$ であつた。

一方、同様に調整したポリアニオングラフト鎖のない吸着体は、血小板の減少が生じた。また、フェニルアラニンを結合していないものは、同じ患者血漿での抗体価が RA80、RAHA320 で、良好なリウマチ因子の吸着能が得られなかつた。

実施例2

ビニル化合物系多孔性重合体として、ヒドロキシルエチルメタアクリレート-エチレングリコールジメタアクリレート-グリンジルメタアクリレートよりなる三元共重合体の平均粒径、平均孔径が $550 \text{ }\mu\text{m}$ の重合体を用いて実験を行つた。重合体中のエポキシ密度は 1 mol/l 多である。有機リガンドとして、D-(+)-ラクトース (4-o- β -

した。吸着後の血漿中の抗T細胞抗体量を、正常T細胞をディテクターとする蛍光抗体法にて測定した。測定操作、条件は以下のものである。

1、健康人末梢血より比重遠心法にてリンパ球を分離し、ナイロンウールカラム法にてT細胞を分取する [「リンパ球機能検査法」中外医学社, p15, P51 (1980)]。

2、分離した健康人T細胞 1×10^6 個に吸着実験後の血漿 0.1 ml を加えて、 4°C 、1時間処理する。

3、洗浄後 FITC 標識抗ヒトイムノグロブリン家兎抗血清を作用させ、蛍光陽性細胞を計数する。

4、これを蛍光陽性細胞の百分率で表示する。

結果は、吸着前の患者血漿が 23.6% 、本吸着体で処理した血漿が 0.3% であつた。また、各血漿のグロブリン、アルブミン量を A/G テスト (A/G B テスト, 和光純薬) で測定したが、大きな相違はなかつた。

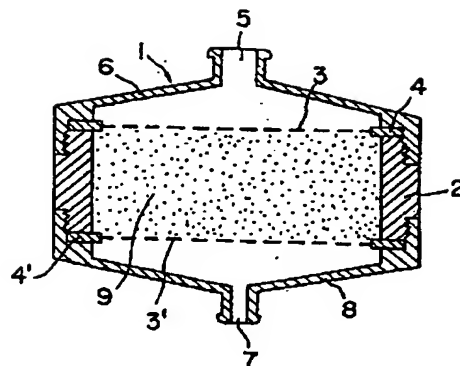
一方、有機リガンドの D-(+)-ラクトースを結合していないポリアニオングラフト鎖のみの吸

着体にて処理された血液の抗T_H抗体量は22.8
 多で、全身性エリテマトーデスの抗リンパ球抗体
 は殆んど吸着されていなかった。また、ポリアニ
 オングラフト鎖のないD-(+)-ラクトースのみ結
 合した吸着体は、牛新鮮血によるカラム通液試験
 で、血小板の減少が観察された。

4 図面の簡単な説明

図面は本発明の血液浄化吸着体を用いた吸着装
 置の形態の一例を示す断面図である。

- 1……吸着装置 2……円筒 3, 3'……フィルター
 4, 4'……パッキング 5……体液導入口
 6……キャップ 7……体液導出口 8……キャップ
 9……吸着体層



代理人 清水



特許法第17条の2の2による補正の掲載

平 2.12.10発行

昭和 58 年特許願第 196145 号(特開昭
60-90039 号, 昭和 60 年 5 月 21 日
発行 公開特許公報 60-901 号掲載)につ
いては特許法第17条の2の規定による補正があっ
たので下記のとおり掲載する。 2 (1)

Int. Cl. '1	識別 記号	庁内整理番号
B01J 20/26		6939-4G
A61M 1/36		7720-4C

平成 2.12.10 発行

特補正書

平成2年9月 4日

特許庁長官 植松 敏 殿

1 事件の表示

特願昭58-196145号

2 発明の名称

血液浄化吸着体

3 補正をする者

事件との関係・特許出願人

(003) 旭化成工業株式会社

4 代理人

郵便番号105

東京都港区虎ノ門一丁目2番29号虎ノ門産業ビル5階

(6823) 弁理士 清水

5 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄



6 補正の内容

明細書第3頁6～10行の「見出し、
……行った結果、」を下記のとおり補正する。
「見出ししている(特公昭63-53971号、
特開昭57-192560号、特公平1-340
67号、特開昭57-134164号各公報参
照)。本発明は、上記の血液凝固の問題点につき
さらに研究を行った結果、」

代理人 清水

